



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

EFEECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DE DIFERENTES
CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS
HOJAS DE *Peperomia inaequalifolia* “CONGONA” EN
CULTIVO DE *Candida albicans* cepa ATCC 10231

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACEÚTICO

AUTORA

REYES RODRÍGUEZ, MARLENI EDUBINA

ASESOR

Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

TRUJILLO – PERÚ

2018

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios por prestarme la vida, por darme sabiduría e inteligencia, por sus cuidados y permitir que alcance uno de los objetivos más grandes de mi vida.

A mis profesores de la Universidad “ULADECH” quienes me brindaron sus enseñanzas en el transcurso de mi carrera.

A mi madre: Santos Felicita y a mi tío Enrique por su apoyo incondicional, por sus consejos, sus valores y por la motivación constante, porque creyeron en mi dándome ejemplos de superación, sacrificio y entrega en cada cosa que realizaba; gracias a ustedes hoy puedo alcanzar una de mis metas, sus consejos y su fortaleza hicieron que llegue hasta el final.

DEDICATORIA

A mi madre: Santos Felicita Rodríguez por su apoyo permanente e incondicional, hasta lograr que sea una buena profesional, por su afecto, comprensión y por ser el motor de mi vida.

A mi sobrino: Luis Ángel por ser mi fortaleza en cada debilidad.

A la memoria de mi hermano, que con sus consejos y dedicación logró fortalecer mi espíritu para alcanzar mi meta.

A mis tíos: Enrique Ramos y Rosalia Ramos por su apoyo incondicional y su constante motivación, por sus enseñanzas que me formaron para ser una mujer de bien.

A un gran amigo especial: Lennin Loyaga por su apoyo y compañía durante el desarrollo de toda mi tesis.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de diseño experimental, se desarrolló con el fin de comparar el efecto antimicótico del aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, procedente de la Provincia de Otuzco, Departamento de la Libertad, en concentraciones de 5%, 10%, 20% y 100% en cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231. El aceite esencial de las hojas *Peperomia inaequalifolia* “congona”, se extrajo por el método de hidrodestilación, del cual se obtuvo 5ml de aceite esencial de las hojas de la planta fresca, y para la preparación de las diferentes concentraciones se utilizó diluyente Dimetilsulfóxido (DMSO) el cual se utilizó como control negativo, los diámetros de halo de inhibición para las concentraciones de 5%, 10%, 20% y 100% fueron 1.82 mm, 2.89 mm, 6.3 mm y 12.31 mm respectivamente no difiriendo significativamente, sin embargo se observa que a la concentración del aceite esencial al 100% el halo de inhibición alcanza un diámetro de halo de inhibición 12.31 mm no difiriendo del control positivo ($p > 0.05$), a través de la prueba Kruskal – Wallis y Mann Whitney. Se concluye que el microorganismo *Candida albicans* es sensible al menos a una de las cuatro concentraciones que es la concentración del 100% del aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona”

PALABRAS CLAVES: *Peperomia inaequalifolia*, aceite esencial, efecto antimicótico.

ABSTRATC

The present research work, experimental design, was developed in order to compare the antifungal effect of the essential oil of the leaves of *Peperomia inaequalifolia* "congona", from the Province of Otuzco, Department of Liberty, in concentrations of 5%, 10%, 20% and 100% on culture of *Candida albicans* ATCC 10231. The essential oil of the leaves *Peperomia inaequalifolia* "congona" was extracted by the hydrodistillation method, from which 5ml of essential oil was obtained from the leaves of the fresh plant, and for the preparation of the different concentrations diluent Dimethylsulfoxide (DMSO) was used which was used as a negative control, the inhibition halo diameters for the concentrations of 5%, 10%, 20% and 100% were 1.82 mm, 2.89 mm, 6.3 mm and 12.31 mm respectively, not differing significantly, however it is observed that at the concentration of the 100% essential oil the inhibition halo reaches an inhibition halo diameter of 12.31 mm, not differing from the positive control ($p > 0.05$), through the Kruskal - Wallis and Mann Whitney test. It is concluded that the microorganism *Candida albicans* is sensitive to at least one of the four concentrations that is the concentration of 100% of the essential oil of the leaves of *Peperomia inaequalifolia* "congona"

KEY WORDS: *Peperomia inaequalifolia*, essential oil, antifungal effect.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN LITERARIA	7
2.1 Antecedentes.....	7
2.2 Bases teóricas.....	8
III. HIPÓTESIS	15
IV. METODOLOGÍA	16
4.1 Diseño de la investigación	16
4.2 Población y muestra.....	17
4.3 Definición y Operacionalización de las variables.....	19
4.4 Técnicas e instrumentos.....	20
4.5 Plan de procesamiento y análisis	23
4.6 Matriz de consistencia.....	25
4.7 Principios éticos.....	26
V. RESULTADOS	27
5.1 Resultados.....	27
5.2 Análisis de resultados	29
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	32
6.2 Conclusiones.....	32
6.3 Recomendaciones	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS	38

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla N°1. Diámetro del halo de inhibición como efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona” en cultivo de <i>Candida albicans</i> cepa ATCC10231, según concentración.....	27
Tabla N°2. Comparación del efecto antimicótico in vitro en diferentes concentraiones del aceite esencial de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona” en cultivo de <i>Candida albicans</i> cepa ATCC 10231.....	28

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura N° 1: Planta de congona	38
Figura N° 2: Ciudad de Otuzco.....	38
Figura N°3: Obtención del material vegetal <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona”	39
Figura N° 4: Separación de las hojas de los tallo de la planta <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona”	39
Figura N° 5: Hojas de la planta de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona”	39
Figura N° 6: Pesar las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona”	39
Figura N° 7: Preparación del equipo.....	39
Figura N° 8: Obtención del aceite esencial de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona”	39
Figura N° 9: Aceite esencial 5ml de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona”	40
Figura N° 10: Siembra del microorganismo en agar sabouraud	40
Figura N° 11: Aplicación de diferentes concentraciones de aceite esencial en <i>Candida albicas cepa</i> ATCC 10231.....	40
Figura N° 12: Lectura de las placas	40

I. INTRODUCCIÓN

Como sustento para su supervivencia a lo largo de la historia el hombre aprovechó los recursos naturales que la naturaleza le brindó; la incidencia de los productos de origen vegetal ha variado con el pasar de los tiempos, de acuerdo con los avances del conocimiento científico. En nuestro país existe una riqueza y diversidad de las plantas nativas, que por sus bondades terapéuticas son usadas de forma empírica. Hoy en día los aceites esenciales que son productos naturales de gran valor e importancia económica son utilizados como materias primas en áreas tales como: perfumería, aromaterapia, fitoterapia ⁽¹⁻³⁾.

Los problemas de salud y la difícil consecución de medicamentos comerciales, han llevado nuevamente a la búsqueda de la medicina tradicional a través del uso y manejo de las plantas. Las diferentes plantas medicinales tienen una contribución importante en el sistema de salud de muchas comunidades locales, ya que son usadas de manera frecuente por la mayoría de la población rural, estas desempeñan un papel dominante en el desarrollo y en la investigación experimental ⁽³⁾.

Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo y tienen importantes aplicaciones en la medicina moderna, porque se utiliza una gran variedad de plantas para desarrollar medicamentos altamente efectivos contra diversas enfermedades partiendo del conocimiento ancestral y la etnomedicina; que está siendo la fuente de información preliminar para la investigación Fitoquímica, la identificación de principios activos y estudios de actividad biológica que, en algunos

casos, han permitido el desarrollo de nuevas drogas. El progreso de la industria farmacéutica y la producción de drogas sintéticas, han limitado en alguna medida de utilización de la fitoterapia ⁽⁴⁾.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha estimado que más del 80% de la población mundial utiliza, rutinariamente, la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) hizo un llamado para que los países incrementen sus esfuerzos para controlar la resistencia antimicrobiana; promoviendo el uso racional de los mismos; desarrollando sistemas de comunicación para recabar y compartir datos sobre resistencia en patógenos específicos promoviendo la investigación y desarrollo de nuevos agentes antibacterianos ^(4,5).

La medicina tradicional a base de plantas medicinales es un campo interesante y se convierte en una alternativa terapéutica para patologías específicas por su bajo costo y fácil acceso a la población de bajos recursos económicos. Desde la antigüedad las plantas son consideradas un alto potencial terapéutico para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas ⁽⁵⁾.

En los últimos años se presenta un incremento en la incidencia de enfermedades fúngicas en los seres humanos; debido al aumento considerable de pacientes inmunocomprometidos, quimioterapia, nutrición parenteral, cirugía de trasplante y el uso de agentes antimicrobianos de amplio espectro. Los fármacos disponibles

actualmente, tienen una toxicidad importante, producen recurrencia o causan resistencia, razón por la cual se está procurando descubrir nuevos agentes anti fúngicos más potentes pero sobre todo seguros ⁽⁵⁾.

Los compuestos derivados de plantas son de interés en este contexto porque ellos comprenden alternativas más seguras y eficaces que los agentes antimicrobianos producidos sintéticamente, lo cual motiva a que estos compuestos naturales sirvan como base para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que sean más eficaces que los sintéticos. Debido a que en diversas investigaciones a nivel mundial se han establecido que muchas plantas aromáticas poseen actividad antibacteriana, antimicótica, antiparasitaria, antiviral e inclusive con efectos insecticidas ⁽⁵⁾.

La importancia de la fitoterapia pone de manifiesto la necesidad de investigar sobre las propiedades farmacológicas de las plantas que no han sido determinadas perfectamente en nuestro medio como las plantas del género de *Peperomia inaequalifolia* son de uso frecuente como medicamentos en la sierra, en casi toda la costa del Perú y parte de la Selva, es necesario estudiar científicamente sus efectos con el fin de permitir su uso racional.

A pesar de los últimos avances terapéuticos, la candidiasis vulvovaginal continúa siendo un problema en el mundo y afectando a todos los sustratos sociales. Aun no se comprende en su totalidad los mecanismos defensivos vaginales a pesar que se han identificado numerosos factores de riesgo, falta dilucidar algunos mecanismos patógenos de esta infección. La candidiasis vulvovaginal es una patología no notificada, que se da por muchos errores en el diagnóstico y por estudios poco representativos, un 70 a 75%

afecta más a mujeres en edad fértil, se estima que de 5 a 8% de las mujeres desarrolla un cuadro más grave y en promedio de 20% de las mujeres sanas asintomáticas esta colonizada por *Candida* ⁽⁶⁾.

Según la Organización de Salud la candidiasis es una infección de transmisión sexual que su malestar clínico se manifiesta al interferir con las relaciones sexuales afectivas, comprometiendo el rendimiento laboral, esto se debe a que la infección es sumamente común ⁽⁷⁾.

La candidiasis obedece al desarrollo anormal de especies de *Candida* en la mucosa tracto genital femenino; las manifestaciones clínicas que presenta esta patología son prurito intenso, leucorrea, edema y eritema vaginal. En el país esta patología de Candidiasis vaginal es considerada la segunda causa más frecuente del flujo vaginal en la población femenina ^(7, 8).

Las plantas medicinales y sus extractos son ampliamente utilizados por los practicantes de la medicina tradicional para curar diversas enfermedades. La creciente aceptación de la medicina tradicional como una forma alternativa de atención de la salud y la búsqueda de nuevos agentes antifúngicos a partir de plantas medicinales, se ha vuelto muy importante ⁽⁹⁾

Es por ello que este estudio de investigación quiere demostrar a la población la prevención o sanidad de dicha patología haciendo el uso de la planta medicinal, debido a que existen estudios que los principios activos del aceite de las hojas de la *Peperomia inaequalifolia* “congona” tiene efecto antimicótico. Respondiendo a la siguiente

pregunta: ¿Tendrán el mismo efecto antimicótico in vitro las concentraciones del aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, en el cultivo cepas de *Candida albicans* ATCC 10231?

La candidiasis es una enfermedad que hoy en día está causando ciertos malestares mayormente en la población, es por ello la importancia de la investigación de este estudio que parte en buscar un tratamiento para dicho malestar, utilizando el aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona” comprobando su efecto en *Candida albicans cepa* ATCC 10231 in vitro, con el fin de que sirva como beneficio a la población.

Esta investigación se basa en buscar productos alternativos como son las plantas medicinales, y en este caso utilizando el aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona” en cepas de *Candida albicans cepa* ATCC 10231 puedan tener mejor o igual efecto antimicótico que los medicamentos ya conocidos, de esta manera se pueda utilizar en el futuro en preparaciones farmacéuticas para la prevención o como tratamiento para la *Candida albicans*.

OBJETIVOS

Objetivo general.

1. Determinar el diámetro de los halos de inhibición como efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona” en cultivo de *Candida albicans cepa ATCC 10231* según concentraciones.

Objetivos específicos.

2. Comparar el efecto antimicótico en diferentes concentraciones del aceite esencial de las hojas *Peperomia inaequalifolia* “congona” en el cultivo de *Candida albicans cepa ATCC 10231*.

II. REVISIÓN LITERARIA

1.1. ANTECEDENTES

a) Nivel internacional.

Carvajal et al ⁽¹⁰⁾. en la Facultad de ingeniería de Biotecnología de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, realizaron un estudio con el objetivo de comprobar o evaluar la caracterización Fitoquímica, actividad antimicrobiana y el efecto antimicótica del aceite de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, se extrajo el aceite esencial de la misma por el método de hidrodestilación con trampa de cleverger modificada, cuyo rendimiento con planta fresca fue del 0.116%. En la composición química del aceite esencial de congona por medio de cromatografía de gases acoplada a masas, lograron demostrar que el aceite de congona posee un total de 10 compuestos; los compuestos principales que pudieron ser identificados por su mayor porcentaje son: Miristicina (65.197%), Elimicina (21.068%) y el tercer componente es el Bisabolol alpha (6.64%).

Se estudió la actividad biológica del aceite esencial frente a cuatro bacterias y una levadura autóctonas, de DIRERLAB, Laboratorio de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador resultando que las bacterias Gram positivas: *Staphylococcus epidermis* y *Staphylococcus aureus* y la levadura *Cándida albicans* mostraron sensibilidad, mientras que en las Gram negativas: *Eschechichia coli* y *Samonella sp.* La sensibilidad fue nula.

Coronel et al ⁽¹¹⁾. en la facultad de Biotecnología de los recursos naturales de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, realizaron un estudio de las propiedades físico y composición química de los aceites esenciales de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav. Y *Piper pubinervulum* C. DC. Y del rizoma de *Renealmia thyrosoidea* subsp. *Thyrsoidea*. Desarrollaron una serie de análisis para la identificación de la composición química de los aceites esenciales de *Peperomia inaequalifolia* a través de cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas, cromatografía fina, encontraron presencia safrol (3.19%) y palmitato de isopropilo (2.54%), una molécula que confiere una alta densidad de aceite superior a la del agua, así como el alcaloide miristicina (0.19%), 1.2.3-triazol (1.68%).

1.2. BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN

a) Planta medicinal:

Son aquellos vegetales que elaboran unos productos llamados principios activos, que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo ⁽¹²⁾.

Fernando Muñoz señala que en uno o más de sus órganos contienen sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica su actividad primordial a veces específica, es servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad o restablezca la salud perdida; que tienen a disminuir o neutralizar el desequilibrio orgánico que es la enfermedad ⁽¹³⁾.

Según Victoria y Morón señalan, estos están destinados a conocer el potencial terapéutico de sus estructuras, de los extractos de estas y a determinar las posibles reacciones tóxicas que puedan ocasionar ⁽¹⁴⁾.

Usos:

Las plantas medicinales constituyen un grupo vegetal de gran interés en cuanto a la industria farmacéutica, cosmética, perfumería y alimentaria; siendo una alternativa a los cultivos tradicionales ⁽¹⁵⁾.

b) Aceites esenciales

Son productos del metabolismo de las plantas y en su composición generalmente están presentes hidrocarburos y sesquiterpenicas, así como derivados oxigenados biogénicamente derivados de ellos. Son la fuente de los olores de las flores, hojas, frutos, corteza y madera de muchas plantas aromáticas, generalmente localizadas en zonas templadas y cálidas como las áreas mediterráneas y tropicales ⁽¹⁶⁾.

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes) ⁽¹⁶⁾.

Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser: compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos. En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable como por ejemplo los del ajo y la cebolla, los cuales contienen compuestos azufrados ⁽¹⁷⁾.

c) **Descripción de la especie vegetal *Peperomia inaequalifolia* “Congona”**

***Peperomia inaequalifolia* “Congona”**

Taxonomía

Nombre científico: *Peperomia inaequalifolia*

Nombre vulgar: congona

Reino: *Plantae*

División: *Fanerogama Magnoliopsida*

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: *Peperomia*

Especie: *inaequalifolia* ^(10,18).

Familia Piperaceae:

La familia de las piperáceas tiene especies leñosas y herbáceas de las regiones tropicales con hojas alternas, raramente verticiladas, sus flores son hermafroditas y lampiñas, su inflorescencia en espiga dispuesta en el ápice de las ramas. El mayor uso de las Piperaceae se encuentran en la medicina popular gracias a las propiedades biológicas de los metabolitos secundarios acumulados como: las amidas piperidínicas, pirrolidínicas, aceites esenciales, pironas, lignanas, neolignanas y metabolitos de biosíntesis mixta (18).

Características

Es una planta herbácea suculenta que mide 50 cm de altura, tiene un tallo cilíndrico, nudoso y ramificado, sus hojas son de color verde brillante, redondas verticiladas, de mayor tamaño las basales que los superiores, opuestas al margen entero, sus flores son de color verdoso y dan lugar a un fruto pequeño (18).

Usos

Las hojas y los tallos son ricas en alcaloides, taninos, resinas, miristicina y bisabolol, por esto son usadas en diversas preparaciones como infusiones, zumos, chichas (18).

d) Micosis

La dermatofitosis es una infección de la piel, el pelo o las uñas causadas por un grupo de hongos queratofilos denominados dermatofitos. Los dermatofitos y especies de *Cándida* son los únicos que se transmiten en forma común de un ser humano a otro. Las micosis son las enfermedades producidas por hongos. Existen muchos tipos de hongos pero no todos afectan al ser humano. Si bien existen micosis superficiales y profundas, las que se ven frecuentemente en la consulta diaria son las primeras, que comprometen las capas superficiales de la piel ^(2,19).

e) Efecto antimicótico:

Engloba cualquier sustancia capaz de producir una alteración tal de las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia directa o indirecta, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped ⁽²⁰⁾.

f) Descripción del microorganismo *Candida albicans*

Taxonomía:

Reino: Fungi

División: Deuteromycota

Clase: Blastomycetes

Familia: Cryptococaceae

Género: *Candida*

Especie: *Candida albicans*

Generalidades:

La *Cándida albicans* se presenta como una levadura en gemación, Gram positiva, que forma largas pseudohifas, hifas y blastoconidios, además son capaces de asimilar y fermentar azúcares. Posee numerosas clamidosporas unicelulares, redondas u ovaladas con gruesa pared refringente. *Cándida albicans* es un hongo dimórfico, es decir, se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37°C en el huésped, y como hongo de aspecto filamentoso, a 25°C en la naturaleza. Pertenece al filo Ascomycota y se reproduce de forma asexual por gemación. En forma de levadura presenta un aspecto de células redondas u ovaladas, de 3-8 x 2-7 micras de tamaño, agrupadas en pequeños grupos, mientras que, en forma de hongo filamentoso, las células se alargan y se diversifican tomando la apariencia de filamentos, pseudo-hifas o pseudo-micelio ^(2,20).

Patogenia:

Este hongo puede asumir patogeneidad provocando la candidiasis; en este caso se presente como una infección vaginal (vaginitis) ^(2,20).

Método de hidrodestilación:

El método de hidrodestilación; se basa en la destilación de algunas de las partes de las plantas por medio de vapor de agua, este arrastra el aceite esencial que contiene las partes de la planta (flores, frutos, hojas y tallos)

(21,22).

III. HIPÓTESIS

a) Hipótesis alternativa (H1):

Las diferentes concentraciones del aceite de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona” difieren en su efecto antimicótico in vitro en *Candida albicans cepa* ATCC 10231.

b) Hipótesis nula (H0):

Las diferentes concentraciones del aceite de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, no difieren en su efecto antimicótico in vitro en *Candida albicans cepa* ATCC10231.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de la investigación

La investigación es de diseño experimental con estímulo creciente y grupo control.

En el control negativo se utilizó Dimetilsulfóxido (DMSO), que se empleó para la disolución del aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, y comprobar si presenta efecto antimicótico.

En el control positivo se preparó una concentración de fluconazol al 3.2% diluido en dimetilsulfóxido.

Grupo experimental consistió en cuatro concentraciones de 5%, 10% 20% y 100%; cada concentración se trabajó con cuatro placas, cada placa se dividió en cuatro cuadrantes, cada cuadrante se le hizo un hoyo, para poder agregar el aceite esencial.

Tipo de investigación.

De acuerdo al fin que se persigue la investigación es básico y en cuanto al enfoque es cuantitativo.

Nivel.

El nivel de la presente investigación es explicativo.

4.2. Población y muestra

Población vegetal:

En este estudio, se consideró como población a la familia de las Piperáceas, del género *Peperomia*, plantas herbáceas, de donde se había extraído el aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona” a diferentes concentraciones 5%, 10%, 20% y 100%, esta planta se obtuvo de la Provincia de Otuzco a 3,018 msnm, Departamento La Libertad. En la cual se determinó la acción biológica que se trabajó con muestras de *Candida albicans cepa* ATCC 10231 Procedente de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

Muestra vegetal:

La muestra está conformada por la especie *Peperomia inaequalifolia*, conocida comúnmente como “congona”, de la cual se utilizaron 5 Kg de sus hojas de dicha planta; se extrajo su aceite esencial y se ensayó en cuatro diferentes concentraciones sobre cultivo de *Candida albicans cepa* ATCC 10231 para determinar el efecto de la actividad antimicótica del aceite esencial.

Criterios de inclusión:

- a. Plantas frescas.
- b. Plantas pobladas de hojas.
- c. Plantas con hojas grandes

Criterios de exclusión:

- a. Plantas en mal estado, que estén secas, con hojas pequeñas y pocas pobladas de hojas.

Población microbiológica:

La población microbiológica lo conforman el microorganismo *Candida albicans cepa* ATCC 10231.

Muestra microbiológica:

Estuvo conformada por el microorganismo de *Candida albicans cepa* ATCC 10231 concentrada, se ajusta a una densidad óptica 0.5 McFarland.

Criterios de inclusión:

- a. Se empleó levaduras jóvenes incubadas durante 24 horas.

Criterios de exclusión.

- a. Cepas que sobre pasen las 24 horas de haberse cultivado.

4.3. Definición y Operacionalización de las variables.

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo de medición
Independiente	Son la fracciones	Se utilizó el aceite	5%,	Cualitativa
Aceite de las	líquidas volátiles,	esencial en 4	10%,	nominal
hojas de	generalmente	concentraciones	20%,	
<i>Peperomia</i>	destilables por	diferentes, para los	100%.	
<i>inaequalifolia</i>	arrastre con	tratamientos.		
“congona”	vapor de agua,			
Dependiente	sustancia capaz	Se evaluó mediante la		Cuantitativa
Efecto	de producir una	medición del halo de	mm	de razón.
antimicótico	alteración tal de	inhibición en cultivo		
sobre <i>Candida</i>	las estructuras de	sobre <i>Candida</i>		
<i>albicans cepa</i>	una célula	<i>albicans cepa</i>		
ATCC 10231	fúngica que	ATC10231		
	consiga inhibir			
	su desarrollo			

4.4 Técnicas e instrumento

La técnica empleada en la investigación fue la observación y como instrumento se utilizó una ficha de recolección de datos en la que se registró.

Procedimiento:

1. El material vegetal “congona” *Peperomia inaequalifolia*, se conservó en temperatura ambiente sin exponerse a los rayos solares para mantener las hojas verdes.
2. Separar las hojas de los tallos y pesar para la extracción 5 Kg. Destilación del aceite esencial de las hojas por el método de Hidrodestilación.

A. Extracción del aceite esencial:

Para la extracción se utilizó el equipo de destilación simple que está conformada por: una olla a presión en donde se colocó la muestra vegetal, el refrigerante, una pera de decantación y frasco ámbar para su almacenamiento.

1. Las hojas se colocaron en la olla de presión. Se conectó con el refrigerante y al final quien recibió el producto fue la pera de decantación.
2. Se tuvo mucho cuidado para que no se derrame el agua de la pera de decantación, sabiendo que el aceite estaba en la parte de abajo.
3. Se separó el aceite en un frasco ámbar para su conservación.

B. Preparación del cultivo:

1. Obtención de la cepa. Se adquirió *Candida albicans cepa* ATCC 10231, proporcionada por el ceparo de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

2. Para la preparación del medio de cultivo; se utilizó agar dextrosa sabouraud, el cual es un medio de cultivo que por sus características, tiene la función de un medio de enriquecimiento para hongos.

Se inocularon las placas con agar dextrosa sabouraud con *Candida albicans* haciendo uso de 65 g de agar dextrosa sabouraud, diluida en un litro de agua destilada y se incubó a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, se utilizó cultivos de 24 horas en *Candida albicans* para la utilización de los extractos.

Se utilizó la Escala de McFarland para observar la turbidez del microorganismo (*Candida albicans*).

1Esterilización de los tubos de ensayo con su tapón respectivo en autoclave.

2Se tomó una muestra de *Candida albicans cepa* ATCC 10231 y se sumergido en el tubo de ensayo con solución salina totalmente desinfectado y tapado.

3Se agito un promedio de 3 minutos, alcanzando una turbidez equivalente al tubo N ° 3 de escala de McFarland ⁽²³⁾.

C. Preparación de las placas:

Se colocó en la placa el medio agar sabouraud de 17 a 20 ml, se dejó solidificar por los menos 30 minutos, luego se dividió en cuatro cuadrantes y en cada cuadrante se le hizo un hoyo. Se preparó la solución de *Candida* con solución salina fisiológica. Previa esterilización para evitar la contaminación, luego se procedió al sustrato con Hisopo. El método de siembra “Siembra en superficie”

D. Incorporación del aceite esencial al medio de cultivo:

Se inició diluyendo el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* “congona” con el diluyente dimetilsulfóxido (DMSO), para obtener las concentraciones de 5%, 10%, 20% y 100%.

1. Para la concentración al 5%, se agregó 0.05 ul de aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* “congona” y 0.95 ul de dimetilsulfóxido (DMSO).
2. Para la concentración del 10%, se agregó 0.1 ul de aceite esencial *Peperomia inaequalifolia* “congona” y 0.9 ul de dimetilsulfóxido (DMSO).
3. Para la concentración del 20%, se agregó 0.2 ul de aceite esencial *Peperomia inaequalifolia* “congona” y 0.8 ul de dimetilsulfóxido (DMSO).

4. Para la concentración del 100%, se agregó 1 ul de aceite esencial sin el diluyente, dimetilsulfóxido (DMSO).

Una vez preparado el medio cultivo de *Candida albicans cepa* ATCC 10231, se procede hacer la siembra en placas Petri de agar dextrosa sabouraud, fueron un total de 16 placas (4 placas por cada concentración), las cuales se dividieron en cuatro cuadrantes, en cada cuadrante se hizo un hoyo, y con ayuda de una micro pipeta se aplicó el aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona”; en cada cuadrante a diferentes concentraciones. Luego las placas fueron llevadas a la incubadora por 24 horas a 30°C. Para luego proceder a la lectura de cada placa.

E. Lectura de las placas:

Los halos de inhibición de las diferentes concentraciones, se utilizó una regla milimétrica (mm); los cuales fueron procesados estadísticamente.

4.5. Plan de procesamiento y análisis

Los datos de los diámetros de inhibición fueron transcritos a una base de datos y procesados de manera automatizada con el soporte del paquete estadístico SPSS-22, para luego presentar los resultados en tablas estadísticas de acuerdo a los objetivos planteados. En la Estadística inferencial se realizó el uso del análisis de varianza para comparar los niveles medios, considerando que existe diferencia en al menos el promedio de los grupos de estudio, si la probabilidad de

equivocarse es menor al 5% ($p < 0.05$). Para comparar los efectos medios por parejas de tratamientos se hizo uso de la prueba post anova de Duncan con el mismo criterio de significación y que podrá identificar la concentración con mayor efecto. Para evaluar de manera más objetiva los resultados también se reportarán con el gráfico más relevante.

4.6 Matriz de consistencia

Título de Investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de Investigación Diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antimicótico in vitro de diferentes concentraciones del aceite esencial de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona” en cultivo de <i>Candida albicans cepa</i> ATCC 10231	¿Tendrán el mismo efecto antimicótico in vitro las concentraciones del aceite esencial de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona”, en el cultivo de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	Objetivo general. Determinar el diámetro de los halos de inhibición como efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona” en cultivo de <i>Candida albicans cepa</i> ATCC 10231según concentraciones.	Hipótesis alternativa Las diferentes concentraciones del aceite de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona” difieren en su efecto antimicótico in vitro en <i>Candida albicans</i> Hipótesis nula Las diferentes concentraciones del aceite de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona”, no difieren en su efecto antimicótico in vitro en <i>Candida albicans</i>	Tipo de investigación Cuantitativo Diseño investigación Experimental	Independiente: Aceite de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> “congona” Dependiente: Efecto antimicótico sobre <i>Candida albicans cepa</i> ATCC 10231	Se utilizó el aceite esencial en 4 concentraciones diferentes, para los tratamientos. Se evaluó mediante la medición del halo de inhibición en cultivo sobre <i>Candida albicans cepa</i> ATC10231	5%, 10%, 20%, 100%. Cualitativa nominal mm Cuantitativa de razón.	Prueba estadística Kruskal-Wallis Mann-Whitney

4.7. Principios éticos

Los aceites esenciales deben contar con exigencias para asegurar la calidad, inocuidad y eficacia; utilizando la indumentaria adecuada, teniendo en cuenta el tipo de extracción.

V. RESULTADOS

5.1 RESULTADOS

Tabla N° 1

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN COMO EFECTO ANTIMICÓTICO
IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Peperomia*
inaequalifolia “CONGONA” EN CULTIVO DE *Candida albicans* cepa ATCC
10231, SEGÚN CONCENTRACIÓN.

diámetro del halo(mm)	Concentración del aceite esencial <i>Peperomia</i> <i>inaequalifolia</i>					
	Control negativo	5%	10%	20%	100%	Control positivo
Media	0.75	1.82	2.89	6.3	12.31	15.07
Desviación estándar	0.39	0.52	0.3	1	1.35	0.91
Prueba K-W+	K-W =89.84		p=0.000		p < 0.01	

Kruskal Wallis: Prueba no paramétrica

Tabla N° 2

COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO EN DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Peperomia inaequalifolia* “CONGONA” EN CULTIVO DE *Candida albicans* cepa ATCC 10231.

OBSERAVCIÓN	Concentraciones del aceite esencial <i>Peperomia inaequalifolia</i>					Control positivo
	Control negativo	5%	10%	20%	100%	
Halos de inhibición	0.75±0.39	1.82±0.52	2.89±0.3	6.3±1	12.31±1.35	15.07±0.91
Promedio						
Comparación De halos	A	A	A	A	B	B

p<0.05 para B vs A

Prueba de Mann-Whitney con ajuste de bonferroni

Parejas de grupos con letras iguales no difieren estadísticamente.

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la presente investigación se buscó determinar si el aceite de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona” a diferentes concentraciones tiene efecto inhibitorio sobre el cultivo de *Candida albicans*, se demostró al apreciarse que en diversas concentraciones existen una inhibición del desarrollo antimicótico, según los resultados obtenidos.

En esta tabla 1, se aprecia el diámetro medio del halo de inhibición según concentración del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, pudiéndose distinguir que el diámetro aumenta a medida que aumenta la concentración. Se observa que la concentración al 100% alcanza un valor que se puede considerar sensible para la levadura, pero aún menor que el control positivo. Se comparan los promedios con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (La prueba F del análisis de varianza no es recomendable en este caso por la falta de cumplimiento de homogeneidad de varianzas). La prueba de Kruskal- Wallis indica una diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.01$), lo que permite señalar que al menos una de las concentraciones tiene un efecto medio significativo en comparación a los demás y este caso corresponde al aceite esencial al 100% . Por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 , lo que se significa que los valores obtenidos de la concentración al 100% si presentan actividad antimicótica, esto coincide con el estudio realizado por Carvajal y Quintero, demostrando que *Candida albicans* es sumamente sensible al aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, a esta concentración ⁽¹⁰⁾.

En la tabla 2, se observa las comparaciones de los halos de inhibición a diferentes concentraciones a través de la prueba Mann-Whitney, se observa que no difieren entre si dicha acción antimicótica; entre las concentraciones de 5%, 10% y 20% ($p>0.05$), siendo bajos sus valores de diámetros de halo de inhibición, por lo que dicho efecto no es importante. Sin embargo a la concentración de 100% difiere su acción antimicótica significativamente con respecto las anteriores concentraciones ($p<0.05$).

Según esta misma prueba estadística no se encuentran diferencia significativa en la actividad antimicótica entre la concentración del aceite esencial *Peperomia inaequalifolia* “congona” al 100% y el control positivo, en este caso el antimicótico Fluconazol. Muy importante la concentración al 100% respecto al grupo del control positivo puede tener un efecto medio similar, algo menor, con un efecto antimicótico estadísticamente no diferenciado ($p>0.05$).

Según estudio de Carvajal y Quinteros, identificaron 10 compuestos que posee el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, siendo los más abundantes Miristicina 65.197%, Elimicina 21.068% y Bisabolol alpha 6.64% son los tres compuestos que presentan mayor porcentaje; mientras que otro estudio de Coronel y Piedra, identificaron presencia de Safrol 3.19%, Palmitato de isopropilo 2.54%, Miristicina 0.19% y Triazol 1.68% ^(10,11).

En el primer estudio no especifican con claridad cuál de los tres componentes tiene actividad antimicótica; y en el estudio realizado por Coronel y Piedra al

identificar el compuesto triazol en el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, permite investigar acerca de este componente. Y según el estudio de Thomson y Tapia, manifiesta que el triazol pertenece al grupo de triazoles que tienen como mecanismo de acción actuar en ciertas etapas de síntesis del ergosterol; bloqueando la 14 alfa lanosterol desmetilasa, la disminución del ergosterol causan una alteración de la membrana celular, que se vuelven más permeable y vulnerable al daño. (24,25).

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.2 CONCLUSIONES

1. Se logró comparar el efecto antimicótico que posee el aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona” a diferentes concentraciones.
2. Se logró determinar que el aceite esencia de *Peperomia inaequalifolia* “congona”, a medida que aumenta las concentraciones, aumenta el efecto antimicótico.
3. Se logró comparar que la concentración al 100% difiere su actividad antimicótica con respecto a las concentraciones del 5%, 10% y 20%.

6.3. RECOMENDACIONES

1. Seguir promoviendo la investigación en cuanto a los estudios de las plantas medicinales y sus principios activos para evaluar sus efectos farmacológicos.
2. Seguir realizando más investigaciones sobre las concentraciones del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* “congona” para determinar a qué concentración tiene efectos terapéutico sobre la *Candida albicans*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez X. Identificación, historia, características y aplicaciones culinarias de cinco plantas aromáticas endémicas de América. Universidad de Cuenca – Cuenca, Junio 2012. [Citado el 10 de octubre del 2017]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/1592/1/tgas56.pdf>
2. Cano C. Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Mithostachys mollis* “muña”. [Tesis de Magister]. Universidad Mayor de San Marcos. Lima – Perú, 2007. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2573/1/Cano_pc.pdf
3. Guerrero N. Caracterización Fitoquímica y actividad biológica de *Oryctanthus spicatus* (Loranthaceae). [Tesis – Obtención de Título]. Universidad Politécnica Salesiana. Sede – Quito – Quito, Mayo 2014. [Citado el 17 octubre del 2017]. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7084/1/UPS-QT05854.pdf>
4. Bermúdez A, Oliveira M, Velázquez D. La Investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. INCI [Internet]. Caracas. [Agosto 2005]. Vol. 30 n.8. [Citado el 17 de octubre del 2017]. Disponible en: http://.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S037818442005000800005&lng=es

5. Marca M. Actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial *cinnamomun zeylanicum Breyn* “canela” frente a *Candida albicans* ATCC 6538. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna. 2012. [Citado el 19 de octubre del 2017]. Disponible en: http://tesis.unjbg.edu.pe:8080/bitstream/handle/unjbg/202/87_2013_Marca_Cuello_MR_FACS_Farmacia_y_Bioquimica_2013_resumen.pdf?sequence=2
6. Tapia C. Candidiasis Vulvovaginal. Rev. chil. Infectol. [Internet]. Santiago. [Ago. 2008] Vol. 25. [Citado el 19 de octubre del 2017]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071610182008000400016.
7. Sao Paulo Medical Journal. Candidiasis Vulvovaginal: Prevalencia de Candidiasis Vaginal en pacientes Diabéticas y no Diabéticas. Universidad Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Brasil, Mar 2014 132(2):116-120. [Citado el 19 de octubre del 2017]. Disponible en: http://www.siicsalud.com/pdf/tc_candidiasis_80514.pdf
8. Muñoz E, Angulo I, Chávez M, y colaboradores. Aislamiento de *Candida albicans* de mujeres con candidiasis vaginal atendidas en el Hospital Regional Docente de Trujillo – Perú, 2012. Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo – Perú. Enero – Septiembre, 2012.

9. Wen L, Haddad M, Fernández I, y colaboradores. Actividad antifúngica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana. Aislamiento de 3' - formil - 2',4',6' - trihidroxidihidrochalcona, principio activo de *Psidium acutangulum*. Rev. Soc. Quim. Perú. Vol. 77 N.3 Lima. Julio – Set, 2011. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S18106342011000300005&script=sciarttext>
10. Carvajal C, Quintero M. Caracterización Fitoquímica, actividad antimicrobiana y antimicótica del aceite esencial de congona (*Peperomia inaequalifolia Ruiz & Pav*) Piperaceae. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Mayo, 2012. Citado el 21 de octubre del 2017. Disponible en: <http://dspae.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4073/1/UPS-QT02906.pdf>
11. Coronel I, Piedra J. Estudio de las propiedades físicas y composición química de los aceites esenciales de las hojas de *Peperomia inaequalifolia Ruiz & Pav*. Y *Piper pubinervulum* C. DC y del Rizoma de *Renealmia thyrsoides subsp. thyrsoides*. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Enero, 2014. Citado 14 de diciembre del 2017. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6632/1/UPS-QT04525.pdf>
12. Editorial CEP. Manual Plantas Medicinales: Formación para el empleo. Editorial. CEP S.L Enero, 2010. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=10646446&ppg=9>

13. Muñoz Fernando. Plantas Medicinales y aromáticas: Estudio cultivo y procesado. Editorial Ediciones Mundi – Prensa. Barcelona 2012. Pág. 15.
14. Victoria M, Morón F. Bioética en experimentación animal para validar usos de plantas medicinales en el Laboratorio Central de Farmacología. Rev Cubana Plant Med v.15 Ciudad de la Habana [jul.-sep. 2010]. [Citado el 14 de diciembre del 2017]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pip=S1102847962010000300008&sript=sciarttx>
15. Cosme Arais. El uso de las plantas medicinales. Universidad Veracruzana Intercultural. Enero, 2008. [Citado el 14 de diciembre del 2017]. Disponible en: http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/8921/1/tra6_p23-26_2010-0.pdf
16. Pino J. Aceites esenciales: química, bioquímica, producción y usos. Editorial. Editorial Universitaria. Julio 2015. [Citado el 14 de diciembre del 2017]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?doID=11125861&ppg=13>
17. Martínez A. Aceites esenciales. Universidad de Antioquía. Medellín. Febrero, 2003. [Citado el 14 de diciembre del 2017]. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>
18. Instituto Superior de Educación Publico Huaraz. Plantas medicinales de Ancash. Disponible en: <http://pmedicinal.webcindario.com/ang/congona.html>
19. Fernández Máximo. Micosis. Dospu. [Citado el 14 de diciembre del 2017]. Disponible en: <http://dospu.unsl.edu.ar/archivos/micosis.htm>

20. Biasoli M. Estructura y actividad de los antifúngicos. Centro de Referencia Micología. Disponible en: <http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/3130/course/section/1519/Estructura%20y%20actividad%20201os%20antifungios.pdf>.
21. Cerpa M. Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y caracterización. Universidad De Valladolid. Departamento de Ingeniería Química y tecnología del Medio Ambiente. Abril, 2017. [citado 22 de Julio del 2018]. Disponible en: <http://www.anipam.es/downloads/43/hidrodestilacion-de-aceites-esenciales.pdf>
22. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Editorial Aiyana. 2006. Pág. 02. [citado 22 de Julio del 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=cW5TsDKqx9wC&pg=PA24&lpg=PA24>
23. Huamaní M, Ruíz J. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus Niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú. Lima – Perú, 2005[Citado el 12 de agosto del 2018]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1278/Huamani_am.pdf?sequence=1&isAllowed=y
24. Thompson L. Antifúngicos. Rev. Chil. infectol. v.19 supl.1 Santiago 2010. [Citado 06 de Agosto del 2018]. Disponible en: http://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arrtext&pid=S0716-10182002019100003
25. Pontón J. La pared celular de los hongos y mecanismo de la anidulafungina. Revista. Iberoam Micol 2008. [Citado el 13 de agosto del 21018]. Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2008-25/078082.pdf>

ANEXOS

Figura N° 1: Planta de congona



Figura N° 2: Ciudad de Otuzco



Figura N° 3: Obtención del material vegetal *Peperomia inaequalifolia* “congona”



Figura N° 4: Separación de las hojas de los tallos de la planta de *Peperomia inaequalifolia* “congona”



Figura N° 5: Hojas de la planta de *Peperomia inaequalifolia* “congona”



Figura N° 6: Pesar las hojas de *Peperomia inaequalifolia* “congona”



Figura N° 7: Preparación del equipo.



Figura N° 8: Obtención del aceite esencial 5 ml



Figura N° 9: Aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* (5 ml)



Figura N° 10: Siembra del microorganismo en agar sabouraud.



Figura N° 11: Aplicación de diferentes concentraciones del aceite esencial en el microorganismo



Figura N° 12. Lectura al microorganismo

